

- (54) **MONOCLONAL ANTIBODY AGAINST HUMAN INTERLEUKIN 6 RECEPTOR**  
(11) 3-139293 (A) (43) 13.6.1991 (19) JP  
(21) Appl. No. 65-189420 (22) 19.7.1990 (33) JP (31) 89p.186016 (32) 20.7.1989  
(71) CHUZO KISHIMOTO (72) CHUZO KISHIMOTO  
(51) Int. Cl.<sup>7</sup>. C12P21/08, C07K15/14, C12N5/20// A61K39/395, C12N15/06(C12P21/08, C12R1/91)

**PURPOSE:** To produce an anti-human interleukin 6 receptor by cloning a cell line capable of recognizing human interleukin-6 receptor from a fused cell between a mammal immunized cell and a myeloma cell.

**CONSTITUTION:** An immunized cell is collected from mammals by sensitizing mammals with human interleukin-6 receptor antigen and the immunized cell is fused with a myeloma cell. Then a cell line capable of recognizing human interleukin-6 receptor is cloned from the fused cell to afford a hybridoma. Further, the hybridoma is cultured and a monoclonal antibody capable of recognizing the human interleukin-6 receptor is collected from the cultured mixture to provide the anti-human interleukin-6 receptor antibody.

(54) **METHOD FOR JUDGING MORBID STATE OF KAWASAKI DISEASE**

- (11) 3-139294 (A) (43) 13.6.1991 (19) JP  
(21) Appl. No. 64-276133 (22) 25.10.1989  
(71) TEIJIN LTD (72) JUN SUZUKI(2)  
(51) Int. Cl.<sup>7</sup>. C12Q1/04, A61B10/00, G01N33/493, G01N33/50

**PURPOSE:** To make it possible to simply judge morbid state of Kawasaki disease including precognition before formation of coronary aneurysm using urine by determining inhibitor activity against tumor necrosis factor (hereinafter referred as to TNF) in human urine.

**CONSTITUTION:** A tumor cell such as L929 cell cultured in a proper culture medium is cultured in the presence of CO<sub>2</sub>. Human urine sample melted just before use and which has been stored under a frozen state since the time of collection is mixed with a natural type recombinant human TNF solution and the mixture is added to L929 culture well. Then the mixture is cultured again in the presence of CO<sub>2</sub> and surviving cell numbers are measured by dyeing degree and absorbance. The morbid state of Kawasaki disease can be judged by measuring TNF inhibitor activity in urine, namely, the higher TNF inhibitor activity in urine is, the worse morbid state of Kawasaki becomes and TNF inhibitor activity becomes the highest value prior to the appearance of coronary arterial lesion which is the most dangerous morbid state. Thereby the precognition of appearance of coronary aneurysmic lesion is made possible and the proper pharmacotherapy and other treatments can be carried out.

(54) **METHOD FOR STABILIZING SUBSTRATE OF GLYCOSIDE**

- (11) 3-139296 (A) (43) 13.6.1991 (19) JP  
(21) Appl. No. 64-277885 (22) 25.10.1989  
(71) INTERNATL REAGENTS CORP (72) YOSHIFUMI WATATSU(2)  
(51) Int. Cl.<sup>7</sup>. C12Q1/34

**PURPOSE:** To stabilize a glycoside substrate in which a sugar is bonded to an optically detectable aglycon and to enable long-term stable storage of the substrate solution by using cyclodextrin or a derivative thereof as a stabilizer.

**CONSTITUTION:** A cyclodextrin or derivative thereof, e.g. water-soluble strengthened type cyclodextrin is used as a stabilizer of a glycoside substrate such as phenolindophenyl-N-acetyl- $\beta$ -D-glucosamide which may be replaced with electron attracting group and/or electron donating group and in which a sugar is bonded to an optically detectable aglycon, by an at least equimolar amount based on the glycoside substrate.

## ⑫ 公開特許公報(A)

平3-139293

⑤ Int. Cl.<sup>3</sup>

識別記号

庁内整理番号

④ 公開 平成3年(1991)6月13日

C 12 P 21/08  
 C 07 K 15/14  
 C 12 N 5/20  
 // A 61 K 39/395  
  
 C 12 N 15/06  
 (C 12 P 21/08  
 C 12 R 1:91)

U 8829-4C  
 D 8829-4C

審査請求 未請求 請求項の数 14 (全8頁)

④ 発明の名称 ヒトインターロイキン-6レセプターに対する抗体

② 特 願 平2-189420

② 出 願 平2(1990)7月19日

優先権主張 ③ 平1(1989)7月20日 ③ 日本(JP) ③ 特願 平1-186016

② 発 明 者 岸 本 忠 三 大阪府富田林市中野町3丁目5番31号  
 ⑦ 出 願 人 岸 本 忠 三 大阪府富田林市中野町3丁目5番31号  
 ⑦ 代 理 人 弁理士 青 木 朗 外4名

## 明 細 書

## 1. 発明の名称

ヒトインターロイキン-6レセプターに対する抗体

## 2. 特許請求の範囲

1. ヒトインターロイキン-6レセプターと特異的に結合し得る抗-ヒトインターロイキン-6レセプター抗体。

2. モノクローナル抗体である請求項1に記載の抗体。

3. ヒトインターロイキン-6レセプターとの結合についてヒトインターロイキン-6と競合する、請求項2に記載の抗体。

4. PM1抗体である請求項3に記載の抗体

5. ヒトインターロイキン-6レセプターとの結合についてヒトインターロイキン-6と競合しない、請求項2に記載の抗体。

6. HT18抗体である請求項5に記載の抗体。

7. ポリクローナル抗体である、請求項1に記載の抗体。

## 8. 次の配列:

(N末端) KTSMHPPYSLGQLVP (C末端)

(ただし配列中のアルファベットはアミノ酸の一字表示法に従ったアミノ酸を示す。)

で現されるヒトインターロイキン-6レセプター部分を認識する、請求項1~7のいずれか1項に記載の抗体。

9. 請求項2に記載のモノクローナル抗体を生産するハイブリドーマ。

10. ヒトインターロイキン-6レセプター抗原により哺乳類を感作し、該哺乳類から免疫細胞を採取し、該免疫細胞をミエロマ細胞株と融合せしめ、そして該融合株からヒトインターロイキン-6レセプターを認識する株をクローニングすることの特徴とするハイブリドーマの製造方法。

11. 前記ヒトインターロイキン-6レセプター抗原が、固体キャリアーに結合されたヒトインターロイキン-6レセプター、又は高分子キャリアーに結合したペプチド(KTSMHPPYSLGQLVPC)である、請求項10に記載の方法。

12. 請求項9に記載のハイブリドーマ、又は請求項10もしくは11に記載の方法により製造されたハイブリドーマを培養し、該培養物からヒトインターロイキン-6レセプターを認識するモノクローナル抗体を採取することを特徴とする抗-ヒトインターロイキン-6レセプター抗体の製造方法。

13. ヒトインターロイキン-6レセプター抗原により哺乳類動物を免疫感作し、該動物からヒトインターロイキン-6レセプターを認識するポリクローナル抗体を採取することを特徴とする抗-ヒトインターロイキン-6レセプターポリクローナル抗体の製造方法。

14. 前記ヒトインターロイキン-6レセプター抗原が次の配列：

(N末端) KTSMHPPYSLGQLVPC (C末端)

(ただし配列中のアルファベットはアミノ酸の一字表示法に従ったアミノ酸を示す。)を有するペプチドを高分子キャリアーに結合した複合体である、請求項13に記載の方法。

子工学的に作製された、細胞表面より離脱したIL-6レセプターは、各種免疫疾患の治療薬、診断薬として期待されている。

この様なIL-6レセプターを大量に生産し、均一に精製するためには、IL-6レセプターを迅速に同定する手段として、あるいは精製する手段として、IL-6レセプターの抗体の開発が望まれる。

しかしながら、これまでにIL-6レセプターを認識するモノクローナル抗体は公に知られていない。

(発明が解決しようとする課題)

従って、本発明はIL-6レセプターに対する種々のタイプの抗体を提供しようとするものである。

(課題を解決するための手段)

上記の目的を達成するため、本発明は、ヒトインターロイキン-6レセプターと特異的に結合し

3. 発明の詳細な説明

(産業上の利用分野)

本発明はヒトIL-6レセプターと特異的に結合する抗体、及びその製造方法に関するものである。

(従来の技術)

インターロイキン-6 (以下IL-6と略す) は、種々の重要な生理活性を有し、広く細胞の増殖分化に関与しているタンパク質である。さらにIL-6の異常産生が種々の自己免疫疾患の病因因子である可能性が報告されている(岸本、平野、Ann.Rev.Immunol., 6, p485, 1988年参照)。

IL-6と特異的に結合する細胞膜上のIL-6レセプターは、田賀らにより解析され、各細胞上の数、IL-6との結合定数が報告されている(J.Exp.Med., 196, p967, 1987年参照)。さらにヒトIL-6レセプターのcDNAが山崎らにより単離され、1次構造が報告されている(Science, 241, p825, 1988年参照)。これらの成果をもとに遺伝

得る抗ヒトインターロイキン-6レセプター抗体；前記の性質を有するモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマ；ヒトインターロイキン-6レセプター抗原により哺乳類を感作し、該哺乳類から免疫細胞を採取し、該免疫細胞をミエロマ細胞株と融合せしめ、そして該融合株からヒトインターロイキン-6レセプターを認識する株をクローニングすることを特徴とするハイブリドーマの製造方法；前記のハイブリドーマを培養し、該培養物からヒトインターロイキン-6レセプターを認識するモノクローナル抗体を採取することを特徴とする抗-ヒトインターロイキン-6レセプター抗体の製造方法；並びにヒトインターロイキン-6レセプター抗原により哺乳類動物を免疫感作し、該動物からヒトインターロイキン-6レセプターを認識するポリクローナル抗体を採取することを特徴とする抗-ヒトインターロイキン-6レセプターポリクローナル抗体の製造方法を提供する。

## (具体的な説明)

本発明の抗体は、ヒトIL-6レセプターを特異的に認識するものであり、これにはモノクローナル抗体及びポリクローナル抗体が含まれる。モノクローナル抗体には、ヒトIL-6とヒトIL-6レセプターとの結合を競合的に阻害するものと、これを競合的に阻害しないものとが含まれる。前者の例としては、本発明のハイブリドーマPM1により産生されるPM1モノクローナル抗体が挙げられ、後者の例としてはハイブリドーマMT18により産生されるMT18モノクローナル抗体が挙げられる。

本発明の抗体の製造のために用いられる免疫原としては、ヒトIL-6レセプターを細胞表面に発現している動物細胞を用いることができる。このような細胞としてはヒトIL-6レセプターを産生するヒト由来細胞株、例えばヒトミエローマ細胞株U266、又はヒトIL-6レセプターをコードするDNAにより形質転換された宿主細胞、例えばそのような動物細胞株が挙げられ、その例とし

てヒトIL-6レセプターをコードするcDNAを含むプラスミドにより形質転換されたマウスT細胞が挙げられる。しかしながら、このような細胞株は、細胞表面に発現しているIL-6レセプターの量が少ない等のため効率的な免疫原とは言い難い。

しかしながら、このような免疫原を使用してであっても、一旦ヒトIL-6レセプターに対する抗体を手に入れば、これを用いてより効率的な免疫原を調製し、これを用いてさらに多様な抗体を製造することができる。例えば、ヒトIL-6レセプターに対する抗体を適当な固体担体に結合させ、他方、ヒトIL-6レセプターを産生する細胞、例えば前記の細胞を培養して細胞溶解し、この細胞溶解物を、前記の抗ヒトIL-6レセプター抗体を結合した固体担体と接触せしめることにより細胞溶解物中のヒトIL-6レセプターを担体上に吸着・濃縮して、これを免疫原として使用することができる。固体担体については抗体を結合できるもので、免疫する動物の生育に重大な影響

を及ぼさないものであれば特別の制限はない。例えば、本発明の実施例で説明される様なセファロース等を基材とした固体担体は、勤弁な操作で抗体を結合でき、かつ、動物の生育に影響を与えない、等、本発明における固体担体として好適である。さらには、遺伝子工学的的方法により、例えば特願平1-9774号明細書に記載されている方法によりヒトIL-6レセプターを調製し、これを免疫原として使用することもできる。また、ヒトIL-6レセプターの一部を構成するペプチドを調製し、これを適当な高分子キャリアー、例えばオバルブミンに結合して免疫原として使用することもできる。さらには、感染後にヒトIL-6レセプターが発現するようにされたワクチニアウイルスを使用することもできる。これらの免疫原はいずれも、ポリクローナル抗体を製造するための免疫原として、及びハイブリドーマを調製するための免疫原として使用することができる。

ポリクローナル抗体の製造は、常法に従って、例えば上記のいずれかの免疫原によりマウス、ウ

サギ、ヒツジ、ヤギ等を免疫感作することによって行うことができる。

ハイブリドーマの作製も常法に従って行うことができる。例えば前記の免疫原のいずれかによりマウス等の哺乳類を免疫し、この動物から脾臓細胞を得、これを樹立されたミエローマ細胞と融合せしめる。次に、目的とする反応性を有するモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマをクローニングする。

モノクローナル抗体を製造するには、前記のようにしてクローニングされたハイブリドーマを培養し、培養上清からモノクローナル抗体を採取する。あるいは、前記ハイブリドーマを動物の腹腔内に接種し、腹水を得、これからモノクローナル抗体を単離することもできる。ハイブリドーマ細胞上清中の抗体又は腹水中の抗体は、常法に従って、例えば硫酸アンモニウム塩析により濃縮することができ、さらにアフィニティークロマトグラフィー、例えばIL-6レセプターを固定化した担体を用いるアフィニティークロマトグラフィー

により精製することができる。

上記のポリクローナル抗体の製造方法、ハイブリドーマの作製方法、モノクローナル抗体の調製方法、抗体の回収・精製方法は、いずれもそれ自体当業界によりよく知られている方法により行うことができる。

#### (実施例)

以下本発明をさらに詳細に説明するために実施例を示すが、本発明はこれら実施例に限定されるものではない。

#### 実施例 1. ヒト IL-6 レセプターに対するマウスモノクローナル抗体の製造

ヒト IL-6 レセプターに対するマウスモノクローナル抗体を作製する目的で、免疫原として、ヒト IL-6 レセプターを膜面に発現しているマウス T 細胞株を以下の方法で作製した。すなわち、特願平 1-9774 号明細書に記載されている pBSF2R.236 及び pSV2neo をマウス T 細胞株 CTLL-2(ATCC, TIB214) に常法で導入し、G-418 を用いる通常の

方法でスクリーニングをし、最終的に IL-6 レセプターを細胞あたり約 30,000 個発現している株を樹立し、これを CTBC3 と名づけた。

免疫は以下の様に行った。RPMI1640 を用いる通常の方法で培養後、PBS バッファーで 4 回洗浄した CTBC3 を、C57BL6 マウス 1 匹あたり  $1 \times 10^7$  細胞個、1 週間に 1 回で計 6 回、腹腔内に免疫した。

前記免疫されたマウスからの脾細胞を、親株としてのミエローマ細胞系 P3U1 と、ポリエチレングリコールを用いる通常の方法に従って融合せしめた。

スクリーニングは以下の様に行った。IL-6 レセプター陰性のヒト T 細胞株 JURKAT(ATCC, CRL 8163) に、pBSF2R.236 と pSV2neo を常法で導入し、スクリーニングの結果、IL-6 レセプターを細胞あたり約 100,000 個発現している株を樹立し、これを NJBC8 と名づけた。NP40 で可溶化した NJBC8 を認識し、NP40 で可溶化した JURKAT を認識しない抗体を産生しているハイブリドーマが 1 クローン

単離され、これを MT18 と名づけた。また、このハイブリドーマによって生産されるモノクローナル抗体を MT18 抗体と称する。前記のハイブリドーマ MT18 は、工業技術院微生物工業技術研究所に微工研条第 2999 号 (FERM BP-2999) として寄託されている。第 6 図のデータは MT18 抗体が IL-6 レセプターを特異的に認識することを示している。この図中 A は、フルオレッセインイソシアネートで標識された MT18 抗体により JURKAT 細胞を染色した場合に蛍光染色された細胞の分布を示し、B は前記 NJBC8 細胞を同様に処理した場合の結果を示す。

#### 実施例 2. IL-6 レセプターに対するモノクローナル抗体の作製

IL-6 レセプターに対するマウスモノクローナル抗体を作製する目的で、免疫原として、ヒト IL-6 レセプターを以下の方法で抽出した。

ヒトミエローマ細胞株 U266 (IL-6 レセプター産生細胞)  $3 \times 10^6$  を 1 ml の 1% ジギトニン (和光純薬)、10 mM トリエタノールアミンバッ

ファー (pH 7.4)、0.15M NaCl、1 mM PAPMSF (和光純薬) で可溶化した。一方、ブロムシアンで活性化したセファロース 4B (ファルマシア社) に、抗 IL-6 レセプター抗体である MT18 抗体 (実施例 1) を常法どおり結合させた。これと前述の可溶化した細胞の上清を混合し、樹脂上の MT18 抗体に可溶化した IL-6 レセプターを結合させた。非特異的結合物を前述の 1% ジギトニン溶液で洗い流した後、MT18 抗体を介してセファロース 4B に結合した IL-6 レセプターを 1 回の免疫原として用いた。

免疫およびハイブリドーマの作製は以下の様に行った。前述の免疫原を 1 週間に 1 回計 4 回、Balb/c マウスの腹部に免疫した。次にマウスからの脾細胞を、親株としてのミエローマ細胞株 P3U1 と、ポリエチレングリコールを用いる通常の方法に従って融合せしめた。

スクリーニングは以下の様に行った。まず、ハイブリドーマの培養上清と 0.01 ml のプロテイン G セファロース (ファルマシア) を混合し、上清

中のイムノグロブリンを樹脂に吸着せしめた。一方、 $^{35}\text{S}$ メチオニンで内部標識したU266細胞 $10^7$ 個を可溶化後、前述のMT18抗体結合セファロース4BでIL-6レセプターをアフィニティー精製した。これを前述のプロテインGセファロースで通常の方法で免疫沈降させ、SDS/PAGEで解析した。この結果、IL-6レセプターと特異的に結合する抗体を産生しているハイブリドーマが1クローン単離され、これをPM1と命名した。又、このハイブリドーマによって生産されるモノクローナル抗体をPM1抗体と称する。

ハイブリドーマPM1は工業技術院微生物工業技術研究所に微工研条第2998号(FERM BP-2998)として寄託されている。

第1図に、モノクローナル抗体PM1とモノクローナル抗体MT18のIL-6レセプターに対する反応性を示す。IL-6レセプターを発現していないT細胞株Jurkat(第1図中、a及びc)及びIL-6レセプターcDNAが導入されており持続的にIL-6レセプターを発現しているJurkat(第

ヒスチジン、Fはフェニルアラニン、Pはプロリン、Yはチロシン、Lはロイシン、Gはグリシン、Qはグルタミン、Vはバリン、Cはシステイン残基を示す)。

これをT.Hiranoらの示す方法(Proc.Natl.Acad.Sci. USA, 84, p228, 1987年参照)により、オバルブミンと結合させた。これをウサギに1週間に1回0.2mg計5回免疫したのち全血清を採取した。さらに、免疫した合成ペプチドを結合させたセファロース4Bでアフィニティー精製した。

第2図のデータは、このようにして作製されたポリクローナル抗体が、IL-6レセプターを特異的に認識することを示す。すなわち、内部標識されたU266細胞(IL-6レセプター産生細胞)をディタージェントで可溶化し、この細胞溶解物を、MT18抗体(レーン1)、PM1抗体(レーン2)、ウサギのイムノグロブリン(レーン3)、又は実施例により調製した抗ペプチドポリクローナル抗体により免疫沈降し、SPS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動にかけた後、オートラジオグラ

1図中、b及びd)のそれぞれと、MT18の培養上清(第1図中、a及びbの実線)及びPM1の培養上清(第1図中、c及びdの実線)のそれぞれとを反応せしめ、これらを蛍光色素を結合したヤギ由来抗マウスイムノグロブリン抗体と反応せしめた後蛍光強度に対する蛍光染色された細胞の分布を調べた。比較のため対応する細胞をMT18の培養上清及びPM1培養上清のいずれかによっても処理しなかった場合の結果を第1図中a, b, c及びdに点線で示した。

この結果、PM1抗体及びMT18抗体のいずれもIL-6レセプターに結合することが確認された。

#### 実施例3. IL-6レセプターに対するポリクローナル抗体の作製

IL-6レセプターに対するポリクローナル抗体を作製する目的で、免疫原として、IL-6レセプターの細胞内領域の一部に相当するペプチドにシステイン残基を付加したもの(KTSMHPPYSLGQLVPC)を常法により合成した(Kはリジン、Tはトレニオン、Sはセリン、Mはメチオニン、Hは

フィーを行った。この結果、MT18モノクローナル抗体、PM1モノクローナル抗体及び実施例2により調製した抗ペプチドポリクローナル抗体はいずれもIL-6レセプターを特異的に認識することが確認された。

#### 実施例4. IL-6レセプターへのIL-6の結合に対するPM1抗体による競合阻害

IL-6の標識、及び細胞上のIL-6レセプターへのIL-6の結合の同定はT.Tagaらの方法(J.Exp.Med., 166, p967, 1987年参照)に従った。

$^{125}\text{I}$ -IL-6 (14,000cpm)と、 $4 \times 10^5$ 個のU266細胞(IL-6レセプター産生細胞)とを室温で60分間反応させた。このとき、分子数で100倍過剰の非標識IL-6、MT18の培養上清(70%容量)、又はPM1の培養上清(70%容量)をそれぞれ存在せしめた。FCS上に重層し、遠心後、細胞の放射能を測定した。比較のため細胞を接種していない培地も同様に処理した。

第3図のデータは、MT18抗体がIL-6とIL-6レセプターの結合を競合阻害しないのに対し、

PM1抗体が競合阻害することを示している。

さらに、第4図でも同様の結果が示された。第4図中、aはU266細胞をIL-6の存在下(破線)又は非存在下(実線)でMT18の培養上清と反応せしめた後蛍光標識された抗マウスイムノグロブリンで染色した場合の蛍光染色強度に対する細胞数の分布を示しており、bはU266細胞をIL-6の存在した(破線)又は非存在下(実線)でPM1の培養液と反応せしめ、その後aの場合と同様に処理した場合の結果であり、a及びbにおける点線はU266細胞にIL-6のみを結合せしめた後同様に処理した場合の結果である。MT18抗体はIL-6の存在に拘らずU266細胞と結合するのに対して、PM1抗体はIL-6の非存在下ではU266細胞と結合するが過剰のIL-6の存在下ではU266細胞と結合せず、従ってPM1抗体がIL-6と競合することが確認された。

#### 実施例5. PM1抗体がIL-6の生物活性を阻害することの確認

IL-6依存性のヒトT細胞白血病株KT3を

スクリーニングは以下のように行なった。まず、ハイブリドーマの培養上清と0.01mLのプロテインGセファロース(ファルマシア)を混合し、上清中のイムノグロブリンを樹脂に吸着せしめた。一方、<sup>35</sup>Sメチオニンで内部標識したU266細胞10<sup>7</sup>個を可溶化後、前述のプロテインGセファロースを用いる通常の方法で免疫沈降させ、SDS/PAGEで解析してIL-6レセプターのバンドが検出され、更にこのバンドが免疫沈降の際にマウスに免疫したペプチド(KTSMHPPYSLGQLVPC)を添加することにより消失することを確認した。その結果、IL-6レセプターの細胞内領域の一部を特異的に認識する抗体を産生しているハイブリドーマが1クローン単離された。

#### (発明の効果)

本発明で提供されるIL-6レセプターを特異的に認識するポリクローナル抗体及びモノクローナル抗体は、診断薬及び治療薬として期待されるIL-6レセプター活性を有する種々のタンパク

S.Simizuらの方法(Blood, 72, p1826, 1988年参照)に従って培養した後、種々の濃度のIL-6を、25%容量のハイブリドーマの培養上清の存在下又は非存在下に加え、市販の96穴プレートに1ウエルあたり5×10<sup>3</sup>細胞/100μLで培養した。60時間後、1ウエルあたり0.75μCiのトリチウム標識されたチミヂンを加え、6時間後細胞を集め、そして取り込まれた放射能を測定した。

第5図のデータは、MT18抗体がIL-6の生物活性を阻害しないのに対し、PM1抗体がIL-6の生物作用を阻害することを示している。

#### 実施例6. IL-6の細胞内領域を認識するモノクローナル抗体の作製

実施例3で使用したIL-6の細胞内領域の一部に相当するペプチドにシステインを付加したもの(KTSMHPPYSLGQLVPC)を、1週間に計4回、Baib/cマウスの腹部に免疫した。次にマウスからの脾細胞をポリエチレングリコールを用いる通常の方法に従い、ミエローマ細胞P3U1と融合せしめた。

質を大量に生産し、そして精製するために有益である。

また、本発明で提供される抗体を用いることにより、自然状態では極めて微量にしか生産されないIL-6レセプターの諸性質を解析することが可能になる。このことは個体発生及び免疫機構の研究、さらにはそれらの成果に基づく治療薬診断薬等の開発等に大きな意義をもつ。

さらに、本発明で提供されるIL-6の生物作用を阻害する抗体は、IL-6の異常産生が病因因子であると考えられている種々の自己免疫疾患の治療薬としての応用開発も考えられる。

#### 4. 図面の簡単な説明

第1図は、IL-6レセプターを発現していないT細胞株Jurkat(a, c)又はIL-6レセプターcDNA含有ベクターが導入されており持続的にIL-6レセプターを発現しているJurkat(b, d)と、MT18の培養上清(a, bの実線)又はPM1の培養上清(c及びdの実線)との反応性を示す。点線は培養上清で処理しなかった細胞に

ついでの結果を示す。

第2図は、内部標識されたU266細胞を可溶化した後、MT18モノクローナル抗体（レーン1）、PM1モノクローナル抗体（レーン2）、ウサギのイムノグロブリン（レーン3）又は実施例2の抗ペプチドポリクローナル抗体（レーン4）により免疫沈降せしめ、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動及びオートラジオグラフィーを行った結果を示す。

第3図は、実施例3に記載の方法でIL-6レセプターへのIL-6の結合に対するPM1抗体及びMT18抗体の阻害効果を示すグラフである。

第4図は、IL-6の存在下（破線）又は非存在下（実線）での、U266細胞へのMT18抗体（a）又はPM1抗体（b）の結合を比較した結果であり、破線はIL-6のみで処理したU266細胞についての結果を示す。

第5図は、MT18の培養上清存在下、PM1の培養上清存在下あるいは非存在下で、種々の濃度のIL-6を添加して培養した時の、KT3細胞に

よるトリチウム標識チミジンの取り込みを示す。

第6図は、MT18抗体がIL-6レセプター産生細胞のみに結合することを示す細胞分布図である。

特許出願人

岸 本 忠 三

特許出願代理人

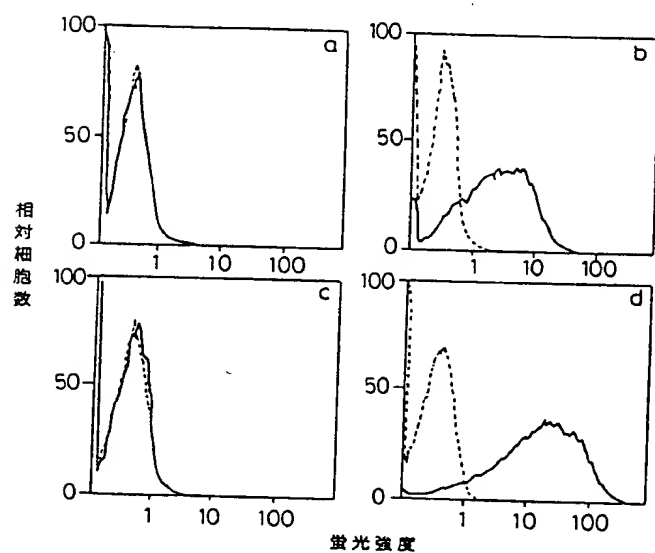
弁理士 青 木 朗

弁理士 石 田 敬

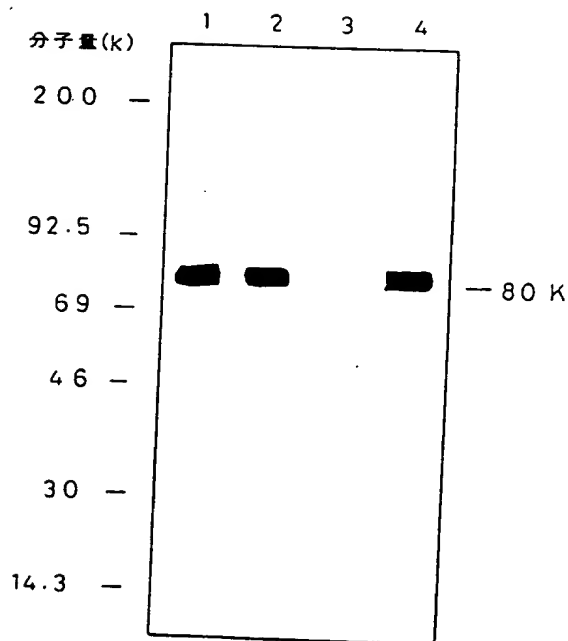
弁理士 福 本 積

弁理士 山 口 昭 之

弁理士 西 山 雅 也

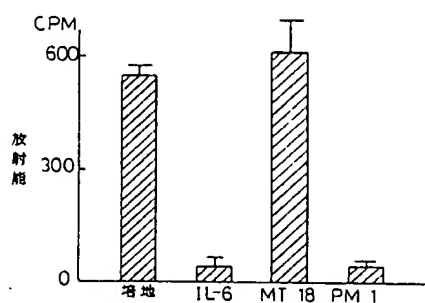


第 1 図

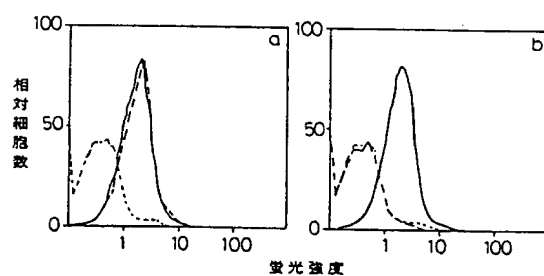


第 2 図

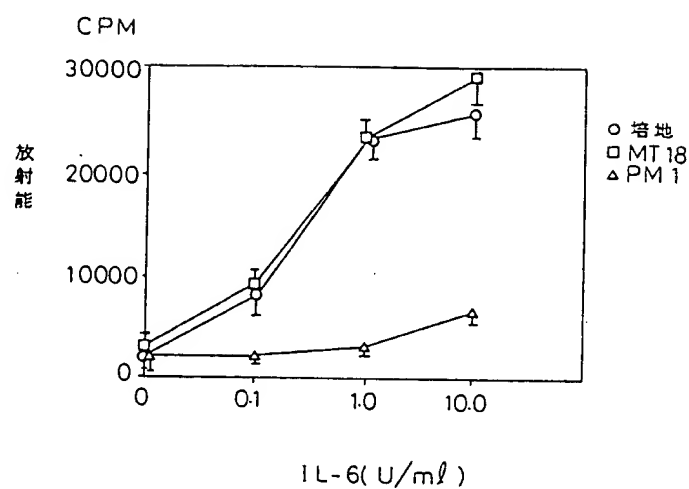




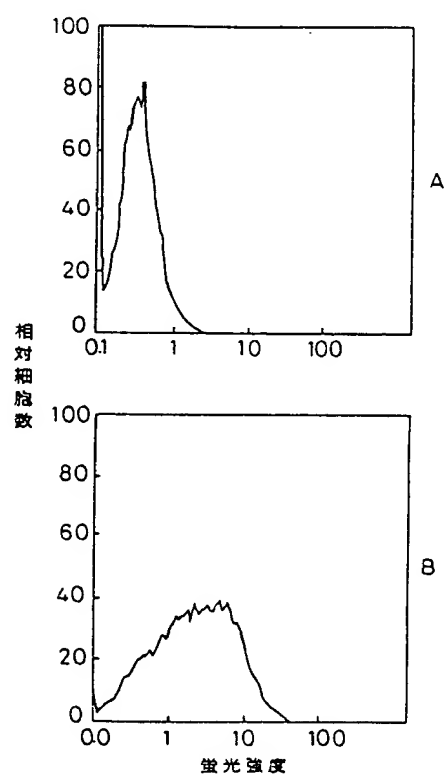
第 3 図



第 4 図



第 5 図



第 6 図